

日 本 国 特 許 庁
JAPAN PATENT OFFICE

1c996 U.S. PTO
09/982964
10/22/01

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office

出 願 年 月 日

Date of Application:

2000年10月25日

出 願 番 号

Application Number:

特願2000-325104

出 願 人

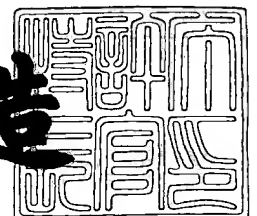
Applicant(s):

株式会社島津製作所

2001年 7月27日

特 許 庁 長 官
Commissioner,
Japan Patent Office

及 川 耕 造



出証番号 出証特2001-3066434

【書類名】 特許願

【整理番号】 K1000617

【提出日】 平成12年10月25日

【あて先】 特許庁長官殿

【国際特許分類】 G01N 27/26

【発明者】

 【住所又は居所】 京都府京都市中京区西ノ京桑原町1番地 株式会社島津
 製作所内

 【氏名】 中村 伸

【特許出願人】

 【識別番号】 000001993

 【氏名又は名称】 株式会社島津製作所

【代理人】

 【識別番号】 100085464

 【弁理士】

 【氏名又は名称】 野口 繁雄

【手数料の表示】

 【予納台帳番号】 037017

 【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

 【物件名】 明細書 1

 【物件名】 図面 1

 【物件名】 要約書 1

 【包括委任状番号】 9110906

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 電気泳動装置

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 板状部材の内部に流路が形成され、その板状部材の一表面の流路に対応する位置に流路に達する穴がリザーバとして形成されたチップデバイスを用い、前記流路の両端側に電圧を印加するための電圧供給機構と、前記流路内で分離されたサンプルを検出するための検出機構とを備えた電気泳動装置において、

少なくとも前記サンプルが流路に注入される部位のサンプルを検出するサンプル注入モニター機構をさらに備えたことを特徴とする電気泳動装置。

【請求項 2】 前記サンプル注入モニター機構及び前記検出機構はそれぞれ蛍光検出光学系を備えたものであり、それらの蛍光検出光学系は共通の励起光源を有するものである請求項 1 に記載の電気泳動装置。

【請求項 3】 前記サンプル注入モニター機構は L E D を光源とする検出光学系を備えたものである請求項 1 に記載の電気泳動装置。

【請求項 4】 用いるチップデバイスは前記流路として互いに交差するサンプル注入用流路と分離用流路とを備えているものであり、前記電圧供給機構によりサンプルを前記サンプル注入用流路と前記分離用流路との交差部へ導くための電圧を供給した後、前記サンプル注入モニター機構により検出した前記サンプル注入用流路の所定範囲でのサンプル分布が所定時間を経過しても均一にならないときに装置を一旦停止させる制御部をさらに備える請求項 1、2 又は 3 のいずれかに記載の電気泳動装置。

【請求項 5】 用いるチップデバイスは前記流路として互いに交差するサンプル注入用流路と分離用流路とを備えているものであり、前記電圧供給機構によりサンプル分離用の泳動電圧を印加したときに前記サンプル注入モニター機構により検出した前記サンプル注入用流路と前記分離用流路との交差部に存在するサンプルが前記分離用流路内へ泳動しないときに装置を一旦停止させる制御部をさらに備える請求項 1 から 4 のいずれかに記載の電気泳動装置。

【発明の詳細な説明】

【 0 0 0 1 】

【発明の属する技術分野】

本発明は、極微量のタンパク質や核酸、薬物などを高速かつ高分解能に分析する電気泳動に用いる電気泳動装置に関し、さらに詳しくは板状部材の内部に形成された流路で電気泳動を行なうチップデバイスを用いる電気泳動装置に関するものである。

【 0 0 0 2 】

【従来の技術】

極微量のタンパク質や核酸などを分析する場合には、従来から電気泳動装置が用いられており、その代表的なものとしてキャピラリー電気泳動装置がある。キャピラリー電気泳動装置は、内径が $100\mu\text{m}$ 以下のガラスキャピラリー内に泳動媒体を充填し、一端側にサンプルを導入した後、両端間に高電圧を印加して分析対象物をキャピラリー内で展開させるものである。キャピラリー内は容積に対して表面積が大きい、すなわち冷却効率が高いことから、高電圧の印加が可能となり、DNAなどの極微量サンプルを高速かつ高分解能にて分析することができる。

【 0 0 0 3 】

キャピラリーはその外径が $100\sim 500\mu\text{m}$ 程度と細く破損しやすいため、ユーザーが行なうべきキャピラリー交換時の取扱いが容易でないという問題を有する。そこで、取扱いが煩雑なキャピラリーに代わって、分析の高速化、装置の小型化が期待できる形態として、D. J. Harrison et al./ Anal. Chem. 1993, 283, 361-366に示されているように、2枚の基板を接合して形成された電気泳動チップ（マイクロチップという）が提案されている。そのマイクロチップの例を図7に示す。

【 0 0 0 4 】

マイクロチップ1は、一对の透明板状の無機材料（例えばガラス、石英、シリコンなど）又はプラスチックからなる基板1a, 1bからなり、半導体フォトリソグラフィ技術又はマイクロマシニング技術により、一方の基板1bの表面に互いに交差する泳動用キャピラリー溝3, 5を形成し、他方の基板1aにはその

溝 3, 5 の端に対応する位置に貫通穴をアノードリザーバ 7 a、カソードリザーバ 7 c、サンプルリザーバ 7 s、ウエイストリザーバ 7 w として設けたものである。マイクロチップ 1 は、両基板 1 a, 1 b を (C) に示すように重ねて接合した状態で使用される。このようなマイクロチップは 2 本の溝 (channel) が交差して形成されていることから、Cross-channel Micro-chip とも呼ばれる。

【 0 0 0 5 】

このマイクロチップ 1 を用いて電気泳動を行なう場合には、分析に先立って、例えばシリンジを使った圧送により、いずれかのリザーバ、例えばアノードリザーバ 7 a から溝 3, 5 内及びリザーバ 7 a, 7 c, 7 s, 7 w 内に泳動媒体を充填する。次いで、リザーバ 7 a, 7 c, 7 s, 7 w 内に充填された泳動媒体を除去し、短い方の溝 (サンプル注入用流路) 3 の一方の端に対応するサンプルリザーバ 7 s にサンプルを注入し、他のリザーバ 7 a, 7 c, 7 w にバッファ液を注入する。

【 0 0 0 6 】

泳動媒体、サンプル及びバッファ液を注入したマイクロチップ 1 を電気泳動装置に装着する。各リザーバ 7 a, 7 c, 7 s, 7 w に所定の電圧を印加し、サンプルを溝 3 中に泳動させて両溝 3, 5 の交差部 9 に導く。各リザーバ 7 a, 7 c, 7 s, 7 w に印加する電圧を切り換えて、長い方の溝 (分離用流路) 5 の両端のリザーバ 7 a, 7 c 間の電圧により、交差部分 9 に存在するサンプルを溝 5 内に注入する。溝 5 内にサンプルを注入した後、リザーバ 7 s 内に收容されているサンプルをバッファ液で置換する。その後、各リザーバ 7 a, 7 c, 7 s, 7 w に電気泳動用の電圧を印加して、溝 5 内に注入したサンプルを溝 5 内で分離させる。溝 5 の適当な位置に検出器を配置しておくことにより、電気泳動により分離されたサンプルを検出する。検出は、吸光光度法や蛍光光度法、電気化学的又は電気伝導度法などの手段により行なわれる。

【 0 0 0 7 】

また、マイクロチップの流路デザインや泳動媒体の組成などの分析条件は、用途やサンプルに応じて異なる。他の流路デザインのマイクロチップとしては、例えば、Yining Shi et al./ Anal. Chem. 1999, 71, 5354-5361 に示されているよ

うに、放射状に多数の分離用流路を備えた電気泳動用マイクロプレートがある。

近年はマイクロチップよりもサイズの大きいものや、複数のチャンネルを備えたもの、さらにはチャンネルの交差部をもたないストレートチャンネルを備えたものも使用されている。本発明におけるチップデバイスはこれらを全て包含したものである。

【0008】

マイクロチップを用いる電気泳動装置においては、サンプルリザーバに注入されたサンプルをサンプル導入用流路と分離用流路との交差部に導くために電圧を印加する際にサンプル導入用流路全体でサンプル分布が均一になる、すなわちサンプル導入用流路と分離用流路との交差部に十分な量のサンプルが導かれるインジェクション条件、例えば流路の両端に印加する電圧の大きさやその電圧印加時間、温度などを流路デザインやサンプルごとに検討しなければならない。従来、インジェクション条件の検討は、電気泳動装置とは別のモニター装置を用いて行っていた。

【0009】

【発明が解決しようとする課題】

しかし、電気泳動装置にマイクロチップを設置し、上記モニター装置を用いて得られたインジェクション条件によりマイクロチップのサンプル導入用流路と分離用流路との交差部へサンプルを導くための電圧を印加するとき、何らかの不具合によりサンプルがサンプル導入用流路全体で均一にならないことがある。サンプル導入用流路でのサンプル分布が均一でない状態でサンプルを分離用流路に注入して分離した測定結果は信用性に欠けるが、サンプルを分離用流路に注入するときのサンプル導入用流路でのサンプル分布を確認することはできなかった。

そこで本発明は、電気泳動装置の測定結果の信頼性を向上させることを目的とするものである。

【0010】

【課題を解決するための手段】

本発明の電気泳動装置は、板状部材の内部に流路が形成され、その板状部材の一表面の流路に対応する位置に流路に達する穴がリザーバとして形成されたチッ

デバイスを用い、流路の両端側に電圧を印加するための電圧供給機構と、流路内で分離されたサンプルを検出するための検出機構とを備えた電気泳動装置であって、少なくともサンプルが流路に注入される部位のサンプルを検出するサンプル注入モニター機構をさらに備えるものである。

【 0 0 1 1 】

電圧供給機構によりサンプルを流路へ導くための電圧を供給した後、サンプル注入モニター機構により、少なくともサンプルが流路に注入される部位のサンプルを検出する。例えば、流路として互いに交差するサンプル注入用流路と分離用流路が形成されているチップデバイスを用いた場合、サンプルが流路に注入される部位のサンプルを検出することにより、サンプル注入用流路と分離用流路との交差部に分離に十分な量のサンプルが導かれているか否かを知ることができる。さらに、サンプル注入用流路でのサンプル分布を監視することにより、インジェクション条件の検討を行なうこともできる。

【 0 0 1 2 】

【発明の実施の形態】

サンプル注入モニター機構及び検出機構はそれぞれ蛍光検出光学系を備えたものであり、それらの蛍光検出光学系は共通の励起光源を有するものであることが好ましい。その結果、それぞれ励起光源を備えた場合に比べて、装置の大きさを小さくすることができ、さらに装置の価格及びランニングコストを低減することができる。

【 0 0 1 3 】

サンプル注入モニター機構はLED (Light Emitting Device、発光ダイオード) を光源とする検出光学系を備えたものであることが好ましい。その結果、光源自体が安価になるのでサンプル注入モニター機構を安価に構築することができる。さらに、サンプルが流路に注入される部位のレイアウトに合わせてLEDアレイを配置するようにすれば、複雑な照射用の光学系を設ける必要がないので、サンプル注入モニター機構をさらに安価に構築することができる。

【 0 0 1 4 】

用いるチップデバイスは流路として互いに交差するサンプル注入用流路と分離

用流路とを備えているものであり、電圧供給機構によりサンプルをサンプル注入用流路と分離用流路との交差部へ導くための電圧を供給した後、サンプル注入モニター機構により検出したサンプル注入用流路の所定範囲でのサンプル分布が所定時間を経過しても均一にならないときに装置を一旦停止させる制御部をさらに備えることが好ましい。

【 0 0 1 5 】

用いるチップデバイスは流路として互いに交差するサンプル注入用流路と分離用流路とを備えているものであり、電圧供給機構によりサンプル分離用の泳動電圧を印加したときにサンプル注入モニター機構により検出したサンプル注入用流路と分離用流路との交差部に存在するサンプルが分離用流路内へ泳動しないときに装置を一旦停止させる制御部をさらに備えることが好ましい。

これらの制御部を備えることにより、サンプルの泳動の良否を自動で判定して泳動の管理を行なうことができる。

【 0 0 1 6 】

【実施例】

図 1 は本発明にかかる電気泳動装置の一実施例を示す概略構成図である。図 1 に示すマイクロチップ 1 は図 7 のものと同じである。

マイクロチップ 1 はリザーバが形成された表面を上方にしてチップ保持台（図示は省略）に保持されている。チップ保持台にはチップ 1 の温度を調節する温調機構が備えられている。

【 0 0 1 7 】

後述する分離ピーク検出光学系とサンプルインジェクションモニター光学系で共通の励起光源レーザ装置 1 1 が設けられている。レーザ装置 1 1 としては、例えばアルゴン (A r) レーザやクリプトン (K r) レーザ、ヘリウムネオン (H e - N e) レーザ、ネオジウム (N d) - Y A G ($Y_3A l_5O_{12}$) などの N d イオン固体レーザ、半導体レーザ (Laser Diode: L D)、光第 2 高調波発生 (S H G) 現象を利用した固体レーザなど、種々のレーザ装置を用いることができる。

【 0 0 1 8 】

レーザ装置 1 1 からの励起光の光路にはその励起光を平行光にするビームエキ

スパンダ 1 3 が設けられている。ビームエキスパンダ 1 3 からの励起光の光路には、その光路上に位置する実線位置とその光路から外れた破線位置の間で移動される可動反射ミラー 1 5 が設けられている。

可動反射ミラー 1 5 に反射された励起光の光路にはその励起光を広げるレンズ 1 7 が設けられている。レンズ 1 7 からの励起光の光路には、チップ 1 の底面側（リザーバが形成された表面とは反対側）に配置され、レンズ 1 7 からの励起光をチップ 1 の底面側へ反射するダイクロイックミラー 1 9 が設けられている。ダイクロイックミラー 1 9 は励起光を反射し、チップ 1 側からの蛍光を透過するような波長特性のものを用いる。

【 0 0 1 9 】

ダイクロイックミラー 1 9 のチップ 1 とは反対側に、分光フィルター 2 1 が設けられている。分光フィルター 2 1 はダイクロイックミラー 1 9 を透過したチップ 1 からの蛍光のうち、所定の蛍光波長の光のみを透過するものである。ダイクロイックミラー 1 9 及び分光フィルター 2 1 の仕様は、サンプルの標識に使用する蛍光物質とレーザ装置 1 1 が発振する励起光の波長により決定される。

【 0 0 2 0 】

分光フィルター 2 1 を透過した蛍光の光路にはその蛍光を CCD (Charge Coupled Device) 2 5 の受光面に結像するためのレンズ 2 3 が設けられている。

CCD 2 5 には、CCD 2 5 の動作を制御し、CCD 2 5 の検出信号を処理するための CPU (中央演算処理装置) 2 7 が電氣的に接続されている。

可動反射ミラー 1 5、ダイクロイックミラー 1 9、分光フィルター 2 1、レンズ 2 3 及び CCD 2 5 はサンプルインジェクションモニター光学系 2 9 を構成する。モニター光学系 2 9 は、チップ 1 のサンプル導入用流路 3 及び分離用流路 5 における蛍光標識を検出して流路 3、5 でのサンプル分布を検出する。

【 0 0 2 1 】

モニター光学系 2 9 において、少なくともサンプル導入用流路 3 と分離用流路 5 との交差部周辺に励起光を照射できるのであれば、ビームエキスパンダ 1 3 の出力光の径とチップ 1 の流路デザインによっては、レンズ 1 7 はなくてもよい。

本発明を構成するサンプル注入モニター機構は、レーザ装置 1 1、ビームエキ

スパンダ 1 3、CPU 2 7 及びモニター光学系 2 9 により構成される。

【 0 0 2 2 】

可動反射ミラー 1 5 が破線位置に位置するときのビームエキスパンダ 1 3 からの励起光の光路には反射ミラー 3 1 が設けられている。反射ミラー 3 1 に反射された励起光の光路には、チップ 1 の表面側（リザーバが形成された側）に配置され、反射ミラー 3 1 からの励起光をチップ 1 の表面側へ反射するダイクロイックミラー 3 3 が設けられている。ダイクロイックミラー 3 3 は励起光を反射し、チップ 1 側からの蛍光を透過するような波長特性のものを用いる。

【 0 0 2 3 】

ダイクロイックミラー 3 3 に反射された励起光の光路には、その励起光をチップ 1 の分離用流路 5 の検出位置に集光する対物レンズ 3 5 が設けられている。

ダイクロイックミラー 3 3 の対物レンズ 3 5 とは反対側に分光器 3 7 が設けられている。分光器 3 7 は対物レンズ 3 5 及びダイクロイックミラー 3 3 を通過したチップ 1 からの蛍光を分光する。分光器 3 7 としては例えば分光フィルターパネルとウェッジプリズムを組み合わせたものや、通過型グレーティングなどを用いることができる。

【 0 0 2 4 】

分光器 3 7 を透過した蛍光の光路にはその蛍光を CCD 4 1 の受光面に結像するためのレンズ 3 9 が設けられている。

CCD 4 1 には、CCD 4 1 の動作を制御し、CCD 4 1 の検出信号を処理するための CPU 4 3 が電氣的に接続されている。

反射ミラー 3 1、ダイクロイックミラー 3 3、対物レンズ 3 5、分光器 3 7、レンズ 3 9 及び CCD 4 1 は分離ピーク検出光学系 4 5 を構成する。検出光学系 4 5 は、チップ 1 の分離用流路 5 の検出位置における蛍光標識を検出して分離したサンプルを検出するものである。分光器 3 7 により検出位置からの光を分光することにより、複数種類の蛍光波長を検出することができる。

本発明を構成する検出機構は、レーザ装置 1 1、ビームエキスパンダ 1 3、CPU 4 3 及び検出光学系 4 5 により構成される。

【 0 0 2 5 】

チップ1の表面側に、チップ1のリザーバ7a、7c、7s、7wに収容された液に電圧を印加するための電極47がリザーバ7a、7c、7s、7wごとに設けられている。各電極47は電極47に電圧を供給するための高電圧供給部49に電氣的に接続されている。高電圧供給部49は、図示は省略されているがCPU27に電氣的に接続されており、高電圧供給部49の動作はCPU27により制御される。

本発明を構成する電圧供給機構は電極47及び高電圧供給部49により構成され、本発明を構成する制御部はCPU27により実現される。

【0026】

図2はこの実施例の動作を示すフローチャートである。図3はチップ1の平面図及びサンプル導入時のサンプル注入用流路と分離用流路との交差部内を示す拡大図である。図1から図3を参照してこの実施例の動作を説明する。

サンプル注入用流路3及び分離用流路5内に泳動媒体を充填し、リザーバ7a、7c、7wにバッファ液を注入し、リザーバ7sにサンプルを注入したチップ1をチップ保持台に設置する（ステップS1）。

電極47をリザーバ7a、7c、7s、7w内に進入させ、予め検討されたインジェクション条件によって高電圧供給部49により電極47を介して各リザーバ7a、7c、7s、7wにサンプル導入用の電圧を印加する（ステップS2）。リザーバ7sに注入されたサンプルはサンプル導入用流路3内に広がり始める。

【0027】

モニター光学系29を使用してサンプル導入用流路3内のサンプル分布を監視する（ステップS3）。

その動作を説明すると、まず可動反射ミラー15を実線位置に移動させ、レーザ装置11から励起光を発振させる。レーザ装置11からの励起光をビームエキスパンダ13により平行光にする。平行光にされた励起光を可動反射ミラー15により反射し、モニター光学系29内へ入射する。可動反射ミラー15からの励起光をレンズ17により広げ、さらにダイクロイックミラー19により反射してチップ1の裏面側に照射する。これにより、励起光はサンプル導入用流路3全体及び分離用流路5全体に照射される。

分光フィルター 2 1 により、ダイクロイックミラー 1 9 を介して分光フィルター 2 1 に照射されたチップ 1 からの蛍光のうち所定波長の蛍光のみをレンズ 2 3 側へ透過させ、透過した蛍光をレンズ 2 3 により CCD 2 5 に結像させる。CPU 2 7 により CCD 2 5 の検出信号をイメージファイルにデータ変換し、サンプル分布を監視する。

【 0 0 2 8 】

CPU 2 7 によりサンプル導入用流路 3 内でサンプル分布が均一になったか否かを判定する（ステップ S 4）。これにより、交差部 9 に分離及び検出に十分な量のサンプルが導かれたか否かを判定する。

ステップ S 4 でサンプル分布が均一になっていないと判定したとき（N o）は、サンプル導入用の電圧の印加から所定時間が経過したか否かを判断する（ステップ S 5）。所定時間が経過していないとき（N o）はステップ S 4 に戻る。所定時間が経過したとき（Y e s）は、CPU 2 7 により高電圧供給部 4 9 を制御して電圧の印加を停止させ、リカバールーチン又は次の実行モードへ移行する。

【 0 0 2 9 】

図 3 中で交差部 9 の拡大図に示すように、サンプル分布がサンプル導入用流路 3 内で均一になり、ステップ S 4 でサンプル分布が均一になったと判定したとき（Y e s）、高電圧供給部 4 9 によりリザーバ 7 a, 7 c, 7 s, 7 w に印加する電圧を切り換えて、サンプル分離用の泳動電圧を印加してサンプルの分離泳動を開始する（ステップ S 6）。

このとき、CPU 2 7 はモニター光学系 2 9 を使用したサンプル導入用流路 3 内のサンプル分布の監視を継続しており、交差部 9 に存在するサンプルが分離用流路 5 内に注入されたか否かを判定する（ステップ S 7）。

ステップ S 7 で分離用流路 5 にサンプルが注入されないと判定したとき（N o）は、CPU 2 7 により高電圧供給部 4 9 を制御して電圧の印加を停止させ、リカバールーチン又は次の実行モードへ移行する。

ステップ S 8 で分離用流路 5 にサンプルが注入されたと判定したとき（Y e s）は、そのまま泳動電圧の印加を継続し、サンプルの分離泳動を行なう。

【 0 0 3 0 】

検出光学系 4 5 を使用して、検出位置に到達したサンプルの検出を行なう（ステップ S 8）。

その動作を説明すると、ステップ S 8 で分離用流路 5 へのサンプルの注入を確認した後、可動ミラー 1 5 を破線位置へ移動させて、ビームエキスパンダ 1 3 からの励起光を反射ミラー 3 1 に照射する。ビームエキスパンダ 1 3 からの励起光を反射ミラー 3 1 により反射し、検出光学系 4 5 内へ入射する。可動反射ミラー 1 5 からの励起光をダイクロイックミラー 3 3 によりチップ 1 の表面側へ反射し、対物レンズ 3 5 により集光してチップ 1 の表面側から分離用流路 5 の検出位置に照射する。

【 0 0 3 1 】

分離用流路 5 の検出位置からの蛍光は対物レンズ 3 5 及びダイクロイックミラー 3 3 を介して分光器 3 7 に照射される。分光器 3 7 により分離用流路 5 の検出位置からの蛍光を分光し、その分光された蛍光をレンズ 3 9 により CCD 4 1 に結像させる。CPU 4 3 により CCD 4 1 の検出信号をイメージファイルにデータ変換して波形処理を行ない、分離したサンプルの検出を行なう。

サンプルの分離終了後、高電圧供給機構 4 9 による電圧の供給を停止する。

【 0 0 3 2 】

このように、モニター光学系 2 9 を備え、モニター光学系 2 9 を使用してサンプル導入用流路 3 内、特にサンプル導入用流路 3 と分離用流路 5 との交差部 9 周辺のサンプル分布を監視することにより、図 2 のステップ S 4 で、サンプルを交差部 9 に導くための電圧をリザーバ間に印加しているときに交差部 9 に十分な量のサンプルが導かれたか否かを判定することができるので、交差部 9 に十分な量のサンプルが導かれない場合は測定を中止することにより、測定結果の信頼性を向上させることができる。さらに、図 2 のステップ S 8 で、交差部 9 に存在するサンプルが分離用流路 5 内に導入され、泳動しているか否かを判定することができるので、サンプルが泳動市内場合は測定を中止することにより、測定結果の信頼性を向上させることができる。

【 0 0 3 3 】

この実施例はサンプルのインジェクション条件の検討を行なうこともできる。

チップ 1 の温度、電圧供給機構 4 9 による各リザーバへの供給電圧、各リザーバへの電圧印加時間を変更し、モニター光学系 2 9 を使用して各条件におけるサンプル導入用流路 3 内のサンプル分布を監視する。これにより、最適なインジェクション条件を検討することができる。

【 0 0 3 4 】

この実施例では励起光源としてのレーザ装置 1 1 を 1 つのみ備えているが、本発明はこれに限定されるものではなく、モニター光学系 2 9 用の励起光源と検出光学系 4 5 用の励起光源をそれぞれ設けてもよい。その場合、可動反射ミラー 1 5 及び反射ミラー 3 1 は不要である。

また、この実施例ではモニター光学系 2 9 用の CPU 2 7 と検出光学系 4 5 用の CPU 4 3 をそれぞれ設けているが、1 つの CPU により CPU 2 7, 4 3 の機能を実現するようにしてもよい。

【 0 0 3 5 】

また、この実施例では、サンプル注入モニター機構を構成するモニター光学系 2 9 はサンプル導入用流路 3 全体及び分離用流路 5 全体を検出範囲としているが、本発明はこれに限定されるものではなく、サンプル注入モニター機構はサンプル導入用流路と分離用流路との交差部を含むサンプル導入用流路の一部分又は全体を検出範囲とするものであればよい。

【 0 0 3 6 】

図 1 に示す実施例では 1 本の分離用流路 5 が形成されたマイクロチップ 1 を用いているが、本発明はこれに限定されるものではなく、多数の分離用流路が形成されたチップデバイスを用いた電気泳動に適用することもできる。

図 4 は、多数の分離用流路が形成されたマイクロチップを示す上面図である。

マイクロチップ 5 1 は、一对の透明板状の無機材料（例えばガラス、石英、シリコンなど）又はプラスチックからなる基板 5 1 a, 5 1 b により構成される。

【 0 0 3 7 】

一方の基板 5 1 b の表面には、半導体フォトリソグラフィ技術又はマイクロマシニング技術により、互いに交差するサンプル導入用流路 5 3 及び分離用流路 5 5 の組が 8 組形成されている。8 組の流路 5 3, 5 5 は、他の組の流路と交差

しないように、サンプル導入用流路 5 3 と交差する側とは反対側の分離用流路 5 5 の一端側を要として扇型に配置されている。サンプル導入用流路 5 3 はチップ 5 1 の面積縮小のために鉤型に形成されている。

【 0 0 3 8 】

他方の基板 5 1 a には流路 5 3, 5 5 の端に対応する位置にアノードリザーバ 5 7 a、カソードリザーバ 5 7 c、サンプルリザーバ 5 7 s、ウエイストリザーバ 5 7 w としての貫通穴が形成されている。リザーバ 5 7 c, 5 7 s, 5 7 w は流路 5 3, 5 5 の組ごとに設けられている。アノードリザーバ 5 7 a は扇型配置の要側の各組の分離用流路 5 5 の一端側で共通である。

【 0 0 3 9 】

チップ 5 1 は、両基板 5 1 a, 5 1 b を重ねて接合した状態で使用される。チップ 5 1 での分離サンプルの検出位置は、扇型配置の要側の各組の分離用流路 5 5 の一端側付近である。

このようなマイクロチップは、多数の分離用流路が形成されていることから、Multi-channel Micro-chip とも呼ばれる。

【 0 0 4 0 】

図 1 に示す電気泳動装置にチップ 5 1 を設置して測定を行なう場合、装置の電極 4 7 はリザーバ 5 7 a, 5 7 c, 5 7 s, 5 7 w の配置に対応して設ける必要がある。さらに、検出光学系 4 5 に関し、例えば反射ミラー 3 1 とダイクロイックミラー 3 3 の間の光路にガルバノミラーや A O D (Acousto-Optics Device) などのビームスキャン素子を設けて帯状の検出位置で励起光を走査できるようにし、分光器 3 7、レンズ 3 9 及び C C D 4 1 を 8 本の分離用流路 5 5 を区別して検出できるものに変更する必要がある。

そのように変更してチップ 5 1 に対応した図 1 に示す電気泳動装置を用いて電気泳動を行なうようにすれば、モニター光学系 2 9 を使用して、サンプル導入用流路 5 3 内のサンプル分布の様子や分離用流路 5 5 へのサンプルの泳動を監視することができる。

【 0 0 4 1 】

図 5 は、サンプルを蛍光波長の異なる 4 種類の蛍光物質で標識し、チップ 5 1

を用いて分離検出したときの検出信号を示す図である。横軸（x軸）は分離用流路 5 5 の番号（チャンネル番号）、縦軸（y軸）は 4 種類の分光スペクトルを示す。図 5 では 4 本の分離用流路 5 5 の検出信号を示している。

図 5 中の丸印は検出位置でかつ分光された蛍光の強度を示す。

【 0 0 4 2 】

チップ 5 1 の各サンプルリザーバ 5 7 s に異なるサンプルをそれぞれ注入し、各リザーバに電圧を印加してサンプルを各組のサンプル導入用流路 5 3 と分離用流路 5 5 との交差部に導いた後、各リザーバに泳動電圧を印加して交差部に存在するサンプルを分離用流路 5 5 へ注入する。各分離用流路 5 5 では、サンプルが分離されつつアノードリザーバ 5 7 a 側へ泳動される。分離され、検出位置に到達したサンプル成分を 4 種類の蛍光物質で識別する。

【 0 0 4 3 】

図 6 は本発明にかかる電気泳動装置の他の実施例を示す概略構成図である。図 6 に示すマイクロチップ 1 は図 7 のものと同じである。図 1 と同じ部分には同じ符号を付し、その部分の説明は省略する。

チップ 1 はチップ保持台（図示は省略）に保持されている。励起光源レーザ装置 1 1、ビームエキスパンダ 1 3、CPU 4 3、分離ピーク検出光学系 4 5 を構成する反射ミラー 3 1、ダイクロイックミラー 3 3、対物レンズ 3 5、分光器 3 7 及び CCD 4 1、並びに電極 4 7 及び高電圧供給部 4 9 は図 1 の実施例と同じである。ただし、サンプルリザーバ及びウエイストリザーバに対応する電極 4 7 の図示は省略されている。また、反射ミラー 3 1 を省略して、ビームエキスパンダ 1 3 からの励起光をダイクロイックミラー 3 3 に直接入射するようにしてもよい。

【 0 0 4 4 】

チップ 1 の表面側のサンプル導入用流路 3 と分離用流路 5 との交差部 9 に対応する位置に励起光源としての LED 5 9 が配置されている。LED 8 としては、例えば発振周波数 4 8 0 nm の青色 LED を用いることができる。ただし、本発明で用いる LED は青色 LED に限定されるものではなく、用いる蛍光物質に応じて他の色、すなわち他の波長の光を発光する LED を用いることができる。

【 0 0 4 5 】

チップ 1 の裏面側のサンプル導入用流路 3 と分離用流路 5 との交差部 9 に対応する位置に分光フィルター 6 1 が配置されている。分光フィルター 6 1 はチップ 1 の交差部 9 周辺からの蛍光のうち、所定の蛍光波長の光のみを透過するものである。分光フィルター 6 1 の仕様は、サンプルの標識に使用する蛍光物質と L E D 5 9 が発光する励起光の波長により決定される。

【 0 0 4 6 】

分光フィルター 6 1 を透過した蛍光の光路にはその蛍光を C C D 6 5 の受光面に結像するためのレンズ 6 3 が設けられている。

C C D 6 5 には、C C D 6 5 の動作を制御し、C C D 6 5 の検出信号を処理するための C P U 6 7 が電氣的に接続されている。

L E D 5 9、分光フィルター 6 1、レンズ 6 3 及び C C D 6 5 はサンプルインジェクションモニター光学系 2 9 a を構成する。モニター光学系 2 9 a は、チップ 1 のサンプル導入用流路 3 と分離用流路 5 との交差部 9 周辺における蛍光標識を検出して交差部 9 付近の流路 3、5 でのサンプル分布を検出する。

【 0 0 4 7 】

モニター光学系 2 9 において、少なくともサンプル導入用流路 3 と分離用流路 5 との交差部周辺に励起光を照射できるのであれば、ビームエキスパンダ 1 3 の出力光の径とチップ 1 の流路デザインによっては、レンズ 1 7 はなくてもよい。

本発明を構成するサンプル注入モニター機構は、レーザ装置 1 1、ビームエキスパンダ 1 3、C P U 2 7 及びモニター光学系 2 9 により構成される。

【 0 0 4 8 】

この実施例では、サンプルリザーバに注入されたサンプルを交差部 9 に導くための電圧をリザーバ間に印加しているときに、L E D 5 9 を点灯させ、モニター光学系 2 9 a を使用してサンプル導入用流路 3 内、特にサンプル導入用流路 3 と分離用流路 5 との交差部 9 周辺のサンプル分布を監視する。これにより、図 1 の実施例と同様に、交差部 9 に十分な量のサンプルが導かれたか否かを判定することができるので、測定結果の信頼性を向上させることができる。

また、この実施例をサンプルのインジェクション条件の検討に使用することも

できる。

【0049】

この実施例ではモニター光学系29a用のCPU67と検出光学系45用のCPU43をそれぞれ設けているが、1つのCPUによりCPU43, 67の機能を実現するようにしてもよい。

また、この実施例では、シングルチャンネルのチップ1を用いているが、マルチチャンネルのチップデバイスにも適用できる。例えば図4に示すチップ51を用いる場合、サンプル導入用流路53と分離用流路55との交差部の位置に対応して8個のLEDを並べて配置することにより、各交差部にそれぞれ励起光を照射し、に各交差部におけるサンプル分布を監視することができる。

【0050】

また、この実施例では、チップ1のサンプル導入用流路3と分離用流路5との交差部9の位置に対応してLED59を配置し、LED59からの励起光を交差部9に直接照射しているが、本発明はこれに限定されるものではなく、例えば、LED59とチップ1との間に集光レンズを配置し、その集光レンズを介して交差部9にLED59からの励起光を照射したり、図1に示す構成において可動反射ミラー15をなくし、レンズ17のダイクロイックミラー19とは反対側にLEDを配置し、レンズ17及びダイクロイックミラー19を介してLEDからの励起光を照射したりするなど、LEDからの励起光を光学系を介してチップ1に照射するようにしてもよい。

【0051】

本発明による電気泳動装置で利用できるマイクロチップは、図4及び図7に示すものに限定されるものではなく、例えば、交差する流路が存在しない分離用流路が形成されたものや、分離用流路に複数の流路が交差して形成されているもの、大型のものなど、種々の流路デザインのマイクロチップを用いることができる。但し、チップデバイスの流路デザインに対応して、電圧供給機構、検出機構及びサンプル注入モニター機構の構成の変更が必要である。

上記実施例では、サンプル注入モニター機構及び検出機構として蛍光検出光学系を備えたものを用いているが、本発明はこれに限定されるものではなく、サン

プル注入モニター機構及び検出機構は、吸光光度法や電気伝導度法など、他の手段により検出を行なう機構を用いてもよい。

【 0 0 5 2 】

【発明の効果】

本発明の電気泳動装置では、少なくともサンプル注入用流路と分離用流路との交差部を含むサンプル注入用流路におけるサンプル分布を検出するサンプル注入モニター機構をさらに備えているので、電圧供給機構によりサンプルを交差部へ導くための電圧を供給した後、サンプル注入用流路と分離用流路との交差部に分離に十分な量のサンプルが導かれているか否かを知ることができ、測定結果の信頼性が向上する。さらに、インジェクション条件の検討を行なうこともできるようになる。

【 0 0 5 3 】

サンプル注入モニター機構及び検出機構はそれぞれ蛍光検出光学系を備えたものであり、それらの蛍光検出光学系は共通の励起光源を有するようにすれば、それぞれ励起光源を備えた場合に比べて、装置の大きさを小さくすることができ、さらに装置の価格及びランニングコストを低減することができる。

【 0 0 5 4 】

サンプル注入モニター機構としてLEDを光源とする検出光学系を備えたものを用いるようにすれば、光源自体が安価になるのでサンプル注入モニター機構を安価に構築することができ、さらに、サンプルが流路に注入される部位のレイアウトに合わせてLEDアレイを配置するようにすれば、複雑な照射用の光学系を設ける必要がないので、サンプル注入モニター機構をさらに安価に構築することができる。

【 0 0 5 5 】

用いるチップデバイスは流路として互いに交差するサンプル注入用流路と分離用流路とを備えているものであり、電圧供給機構によりサンプルをサンプル注入用流路と分離用流路との交差部へ導くための電圧を供給した後、サンプル注入モニター機構により検出したサンプル注入用流路の所定範囲でのサンプル分布が所定時間を経過してもサンプル注入用流路の所定範囲で均一にならないときに装置

を一旦停止させる制御部をさらに備えるようにすれば、サンプルの泳動の良否を自動で判定して泳動の管理を行なうことができる。

【0056】

用いるチップデバイスは流路として互いに交差するサンプル注入用流路と分離用流路とを備えているものであり、電圧供給機構によりサンプル分離用の泳動電圧を印加したときにサンプル注入モニター機構により検出したサンプル注入用流路と分離用流路との交差部に存在するサンプルが分離用流路内へ泳動しないときに装置を一旦停止させる制御部をさらに備えるようにすれば、サンプルの泳動の良否を自動で判定して泳動の管理を行なうことができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】 一実施例を示す概略構成図である。

【図2】 同実施例の動作を示すフローチャートである。

【図3】 マイクロチップの平面図、及びサンプル導入時のサンプル注入用流路と分離用流路との交差部内を示す拡大図である。

【図4】 多数の分離用流路が形成されたマイクロチップを表す図であり、(A)は一方の基板の上面図、(B)は他方の基板の上面図、(C)は両基板を重ね合わせた状態での上面図である。

【図5】 サンプルを蛍光波長の異なる4種類の蛍光物質で標識し、図4のマイクロチップを用いて分離検出したときの検出信号を示す図である。

【図6】 他の実施例を示す概略構成図である。

【図7】 マイクロチップの一例を表す図であり、(A)は一方の基板の上面図、(B)は他方の基板の上面図、(C)は両基板を重ね合わせた状態での側面図である。

【符号の説明】

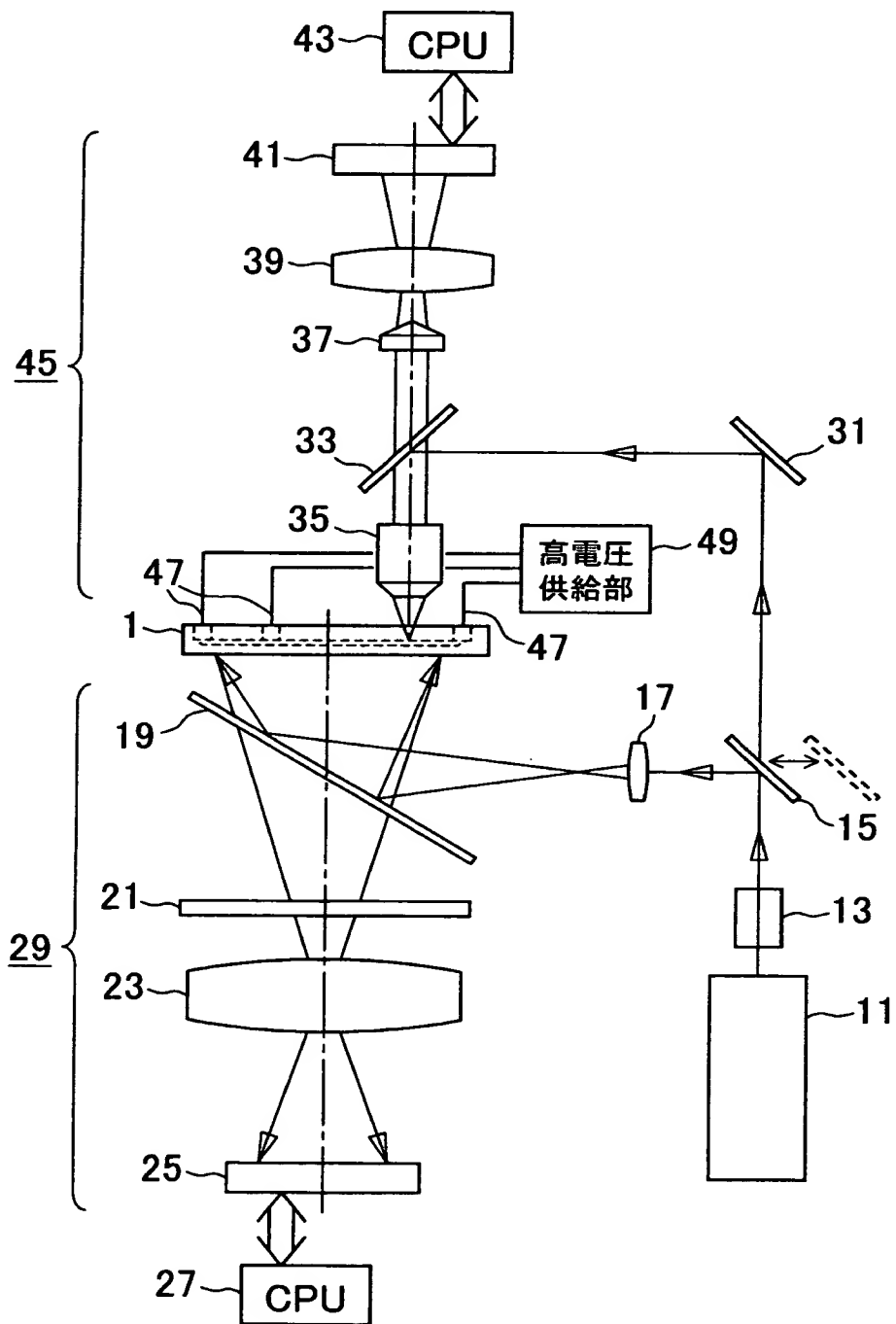
- 1 マイクロチップ
- 3 サンプル注入用流路
- 5 分離用流路
- 7 a アノードリザーバ
- 7 c カソードリザーバ

7 s サンプルリザーバ
7 w ウェイストリザーバ
1 1 励起光源レーザ装置
1 3 ビームエキスパンダ
1 5 可動反射ミラー
1 7, 2 3, 3 9, 6 9 レンズ
1 9, 3 3 ダイクロイックミラー
2 1, 6 1 分光フィルター
2 5, 4 1, 6 5 C C D
2 7, 4 3, 6 7 C P U
2 9 サンプルインジェクションモニター光学系
3 7 分光器
4 5 分離ピーク検出光学系
4 7 電極
4 9 高電圧供給部
5 9 L E D

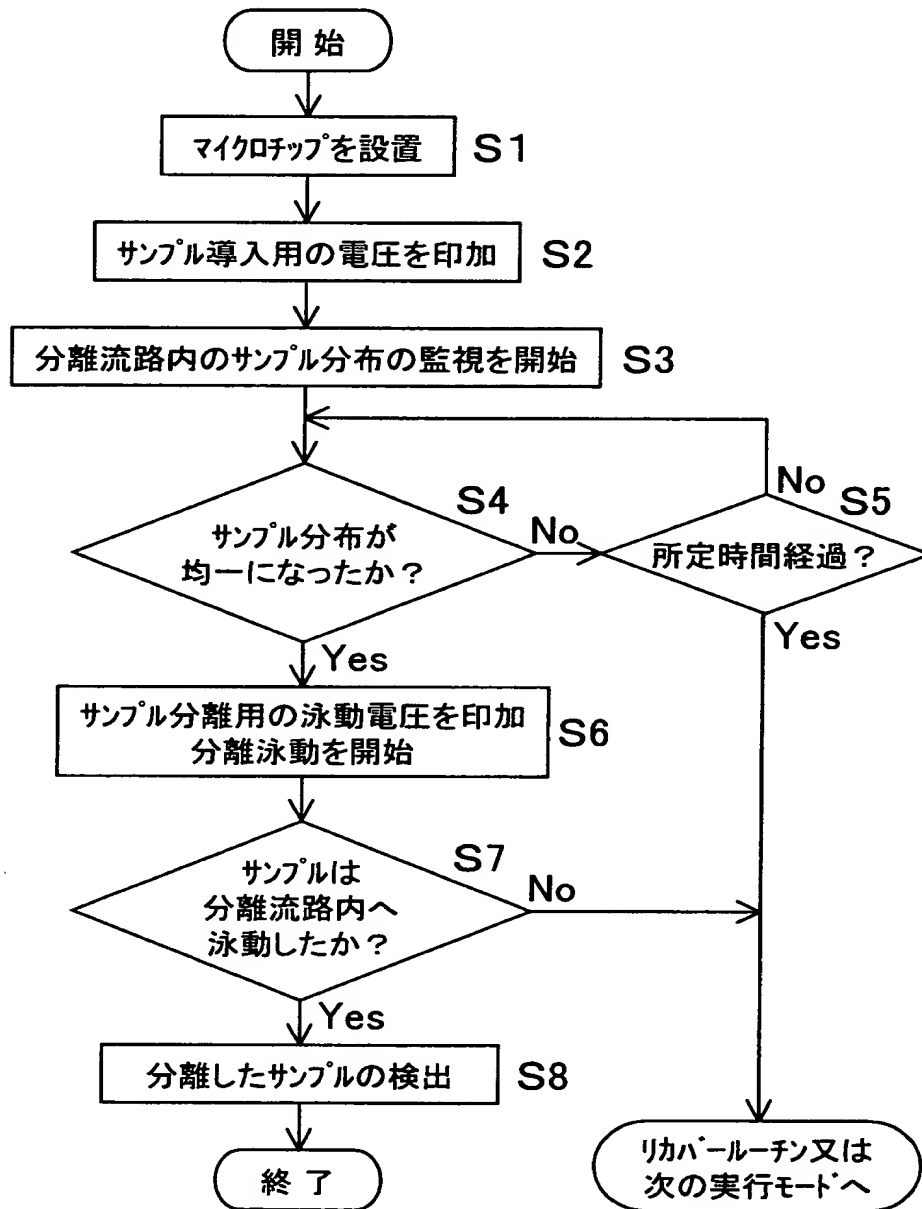
【書類名】

凶面

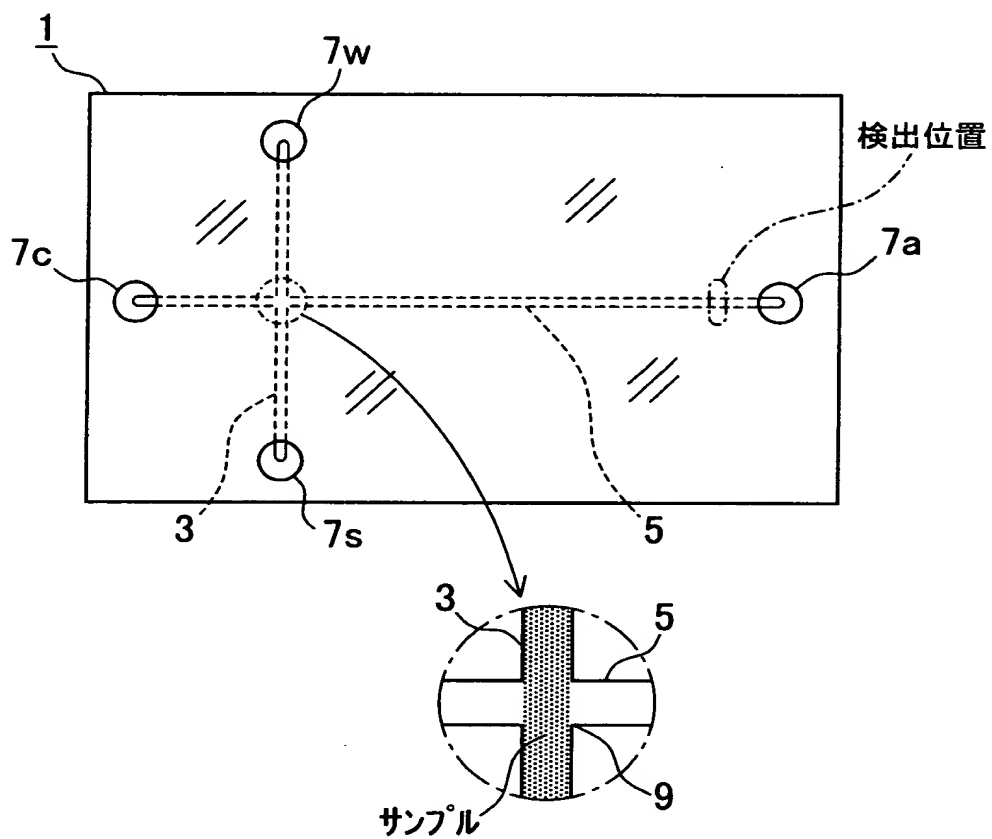
【図 1】



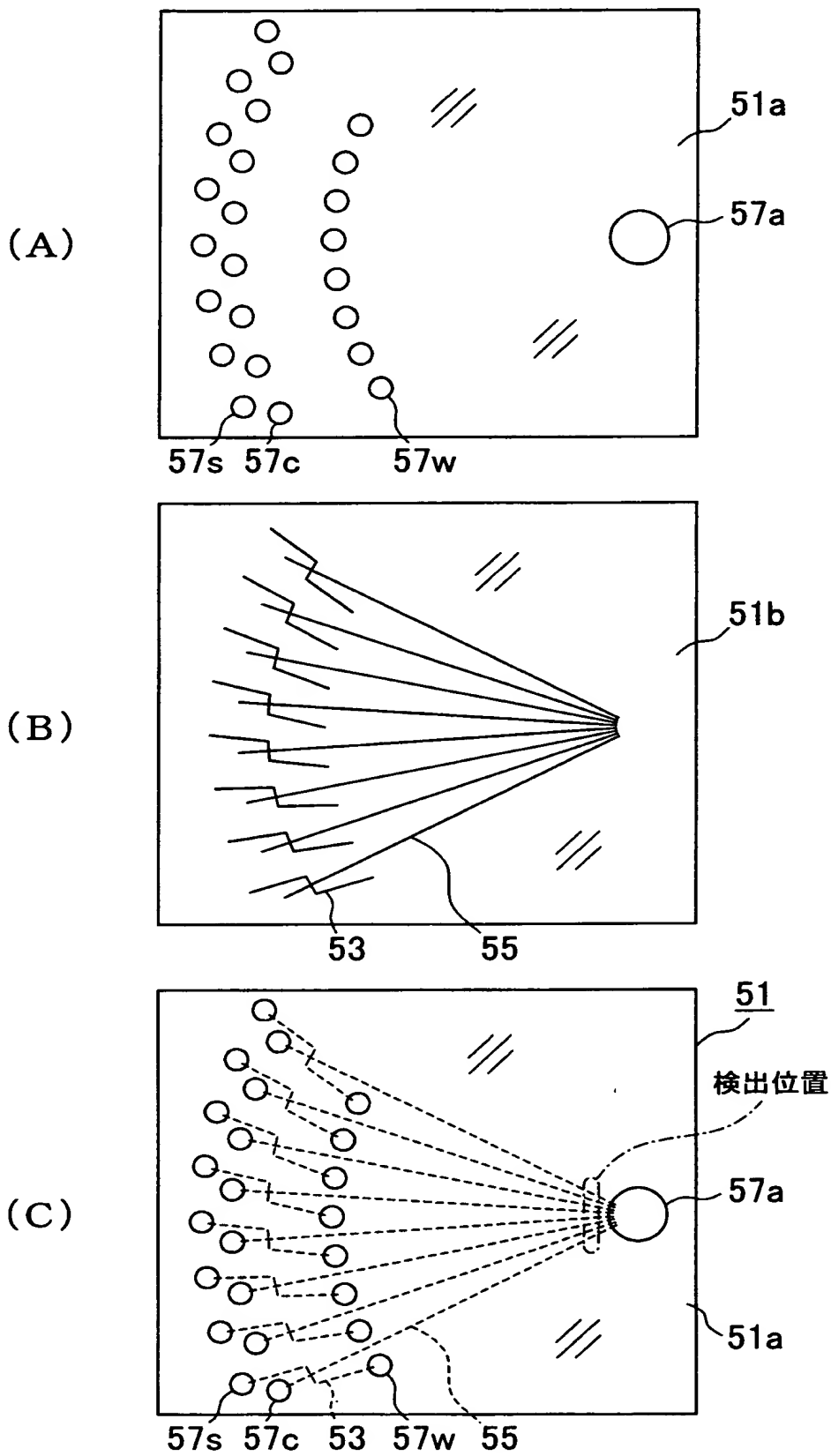
【図 2】



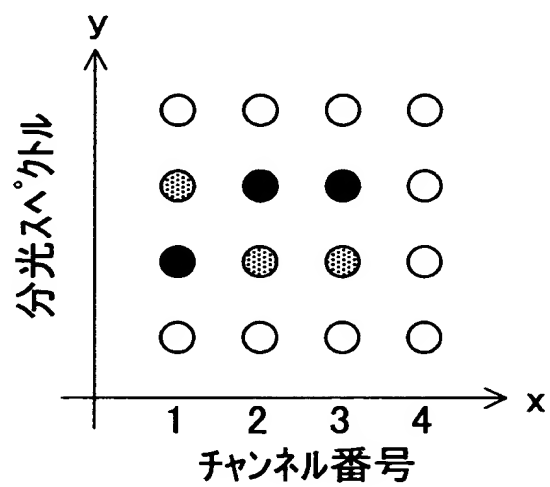
【図 3】



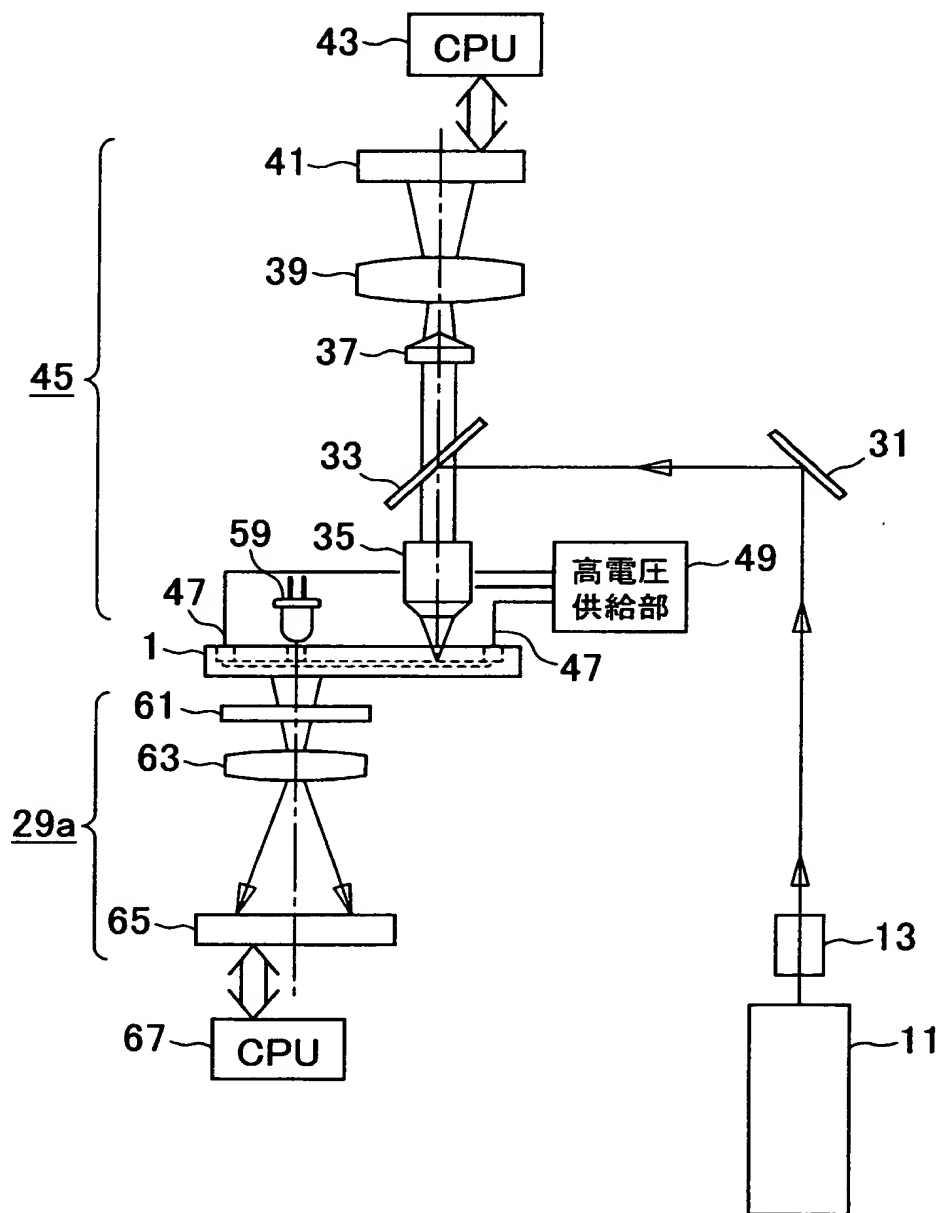
【図 4】



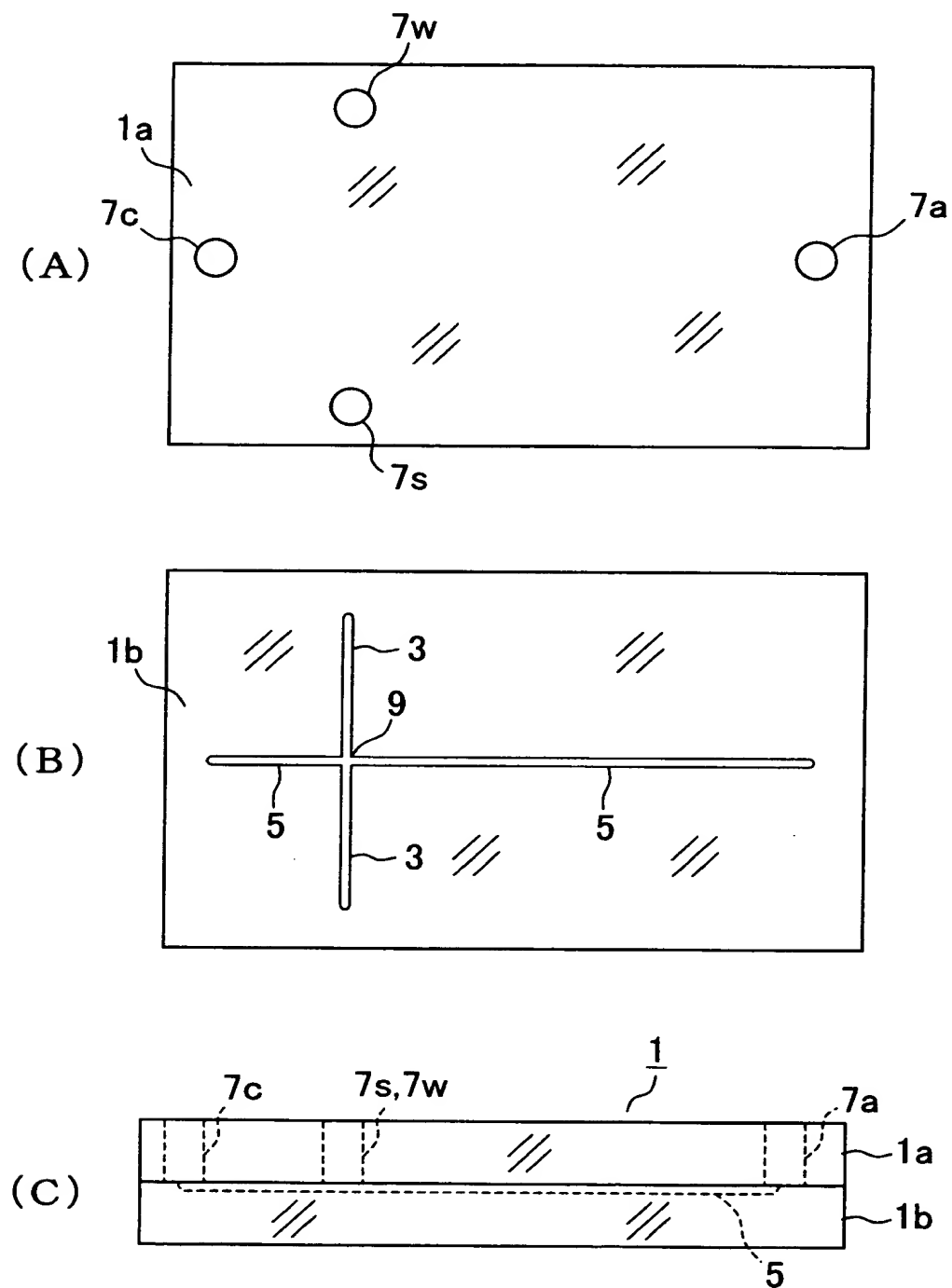
【図 5】



【図 6】



【図 7】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 電気泳動装置の測定結果の信頼性を向上させる。

【解決手段】 高電圧供給部 4 9 により電極 4 7 を介してマイクロチップ 1 の各リザーバにサンプル導入用の電圧を印加し、チップ 1 のサンプルリザーバに注入されたサンプルをサンプル導入用流路と分離用流路との交差部に導く。このとき、可動反射ミラー 1 5 を実線位置に移動させ、レーザ装置 1 1 からの励起光をビームエキスパンダ 1 3、ミラー 1 5、レンズ 1 7 及びダイクロイックミラー 1 9 を介してチップ 1 の裏面側に照射する。分光フィルター 2 1 により、ダイクロイックミラー 1 9 を介して分光フィルター 2 1 に照射されたチップ 1 からの蛍光のうち所定波長の蛍光のみをレンズ 2 3 側へ透過させ、透過した蛍光をレンズ 2 3 により CCD 2 5 に結像させる。CPU 2 7 により CCD 2 5 の検出信号に基づいてサンプル導入用流路内のサンプル分布を監視する。

【選択図】 図 1

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[000001993]

1. 変更年月日 1990年 8月27日

[変更理由] 新規登録

住 所 京都府京都市中京区西ノ京桑原町1番地

氏 名 株式会社島津製作所